

PCT COOPERATION TREATY

PCT
NOTIFICATION OF TRANSMITTAL
OF COPIES OF TRANSLATION
OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 72.2)

Weickmann & Weickmann

From the INTERNATIONAL BUREAU

25. MRZ. 2002

To:

Frist:
Patentanwälte

WEICKMANN, H.
 Kopernikusstrasse 9
 81679 München
 ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 12 March 2002 (12.03.02)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 20538P WO	
International application No. PCT/EP00/08234	International filing date (day/month/year) 23 August 2000 (23.08.00)
Applicant WILEX AG et al	

1. Transmittal of the translation to the applicant.

The International Bureau transmits herewith a copy of the English translation made by the International Bureau of the international preliminary examination report established by the International Preliminary Examining Authority.

2. Transmittal of the copy of the translation to the elected Offices.

The International Bureau notifies the applicant that copies of that translation have been transmitted to the following elected Offices requiring such translation:

CA,CN,JP,KP,KR,US

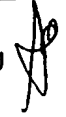
The following elected Offices, having waived the requirement for such a transmittal at this time, will receive copies of that translation from the International Bureau only upon their request:

AP,EA,EP,AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CH,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,KE,KG,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW, MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW,OA

3. Reminder regarding translation into (one of) the official language(s) of the elected Office(s).

The applicant is reminded that, where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report.

It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned (Rule 74.1). See Volume II of the PCT Applicant's Guide for further details.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Odile ALIU 
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 20538P WO	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/08234	International filing date (day/month/year) 23 August 2000 (23.08.00)	Priority date (day/month/year) 25 August 1999 (25.08.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07C 279/18, A61K 31/155		
Applicant WILEX AG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet. <input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of <u>5</u> sheets.
3. This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 07 March 2001 (07.03.01)	Date of completion of this report 21 November 2001 (21.11.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/08234

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages _____ 1-19 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____ 1-12 _____, filed with the letter of _____ 19 October 2001 (19.10.2001)
- ☒ the drawings:
pages _____ 1/2, 2/2 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/08234

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1.	Statement			
	Novelty (N)	Claims	1-12	YES
		Claims		NO
	Inventive step (IS)	Claims	1-12	YES
		Claims		NO
	Industrial applicability (IA)	Claims	1-10, 12	YES
		Claims		NO

2. Citations and explanations

- D1: WO-A-99 20608
D2: US-A-5 914 319
D3: DE-C-947 552
D4: US-A-3 257 411
D5: J. Med Chem. 1990, 33, 2956-2961
D6: J. Med. Chem. 1992, 32, 4150-9
D7: Chem. Abstr. 1968, 69, 35691c.

1. The subject matter of the delimited Claims 1 to 12 relates to monocyclic aryl guanidine derivatives of the general Formulas (I) (see Claim 1) and (IV) (see Claim 5), their use as selective inhibitors of the urokinase-type (uPA) plasminogen activator and a method for inhibition of urokinase in living things.

The claimed aryl guanidine derivatives comprise a monocyclic ring system with a single ring and a substituent with a methylene group accompanied by hydrogen donor/acceptor functionalities ($-\text{CH}_2\text{X}^1$).

2. Documents D1 to D7 describe aryl guanidine derivatives which were prejudicial to the novelty of the originally submitted claims. By delimiting the

claims to **monocyclic aromatic compounds with one substituent $-\text{CH}_2\text{X}^1$** the compounds in D1 to D7 are excluded from the present claims.

The subject matter of the claims can therefore be seen as novel (PCT Article 33(2)).

3. On the basis of the prior art cited in pages 1 and 2 of the description (see also D1) the problem addressed by the present invention is to make available new selective uPA inhibitors.

This problem is solved by using compounds of the general Formulas (I) and (IV) which display a particularly high potency and selectivity for uPA (see Example 4). None of the documents available contains an indication that monocyclic aromatic compounds with a substituent $-\text{CH}_2\text{X}^1$ in particular possess particularly high activity and selectivity. Moreover, the applicant was able to show (letter dated 19 January 2001) that phenylguanidine derivatives with the substituent $-\text{X}^1$ or $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{X}^1$ instead of the substituent $-\text{CH}_2\text{X}^1$ have no effect on the aromatic ring as uPA inhibitors.

Consequently, the subject matter of Claims 1 to 12 is seen as inventive (PCT Article 33(3)).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/08234

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite D1-D4, D6 and D7 or indicate the relevant prior art disclosed therein.
2. The description is not consistent with the claims (PCT Rule 5.1(a)(iii)).
3. Claim 4 is unclear in relation to the term "cycloalkyl groups" as these are not covered by Claim 1 (PCT Article 6).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/08234

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 11

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 11
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/08234

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

1. Claim 11 relates to subject matter which, in the opinion of the Examining Authority, comes under PCT Rule 67.1 (iv). Consequently, an expert opinion regarding the industrial applicability of the subject matter in this claim has not been established(PCT Article 34(4)(a)(i)).

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 20538P WO	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 08234	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 23/08/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 25/08/1999
Anmelder WILEX BIOTECHNOLOGY GMBH et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____



wie vom Anmelder vorgeschlagen



keine der Abb.



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 C07C279/18 A61K31/155

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 C07C A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 99 20608 A (BARBER CHRISTOPHER GORDON ;DICKINSON ROGER PETER (GB); FISH PAUL V) 29. April 1999 (1999-04-29) Zusammenfassung Ansprüche ---	1,4-6, 8-14
X	US 5 914 319 A (SCHACHT AARON L ET AL) 22. Juni 1999 (1999-06-22) Spalte 2, Zeile 10 - Zeile 18 Beispiele 34,36,38,40 Spalte 112, Zeile 66 - Spalte 113, Zeile 8 Spalte 117, Zeile 11 - Zeile 22 ---	1,3,8, 11-14
X	DE 947 552 C (FABRBWERKE HOECHST AKTIENGESSELLSCHAFT) 6. September 1956 (1956-09-06) Beispiel 2 --- -/--	14



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

16. Januar 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

01/02/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

O'Sullivan, P

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 3 257 411 A (ARTHUR A PATCHETT ET AL) 21. Juni 1966 (1966-06-21) Beispiel 6 ---	14
A	HEECHUNG YANG ET AL: "SELECTIVE INHIBITION OF UROKINASE BY SUBSTITUTED PHENYLGUANIDINES: QUANTITATIVE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP ANALYSES" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY,US,AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. WASHINGTON, Bd. 33, Nr. 11, 1990, Seiten 2956-2961, XP002059264 ISSN: 0022-2623 Tabelle 1 ---	1-14
X	R RAI, J A KATZENELLENBOGEN: "Guanidinophenyl-substituted enol lactones as selective, mechanism-based inhibitors of trypsin-like serine proteases" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY., Bd. 35, Nr. 22, 1992, Seiten 4150--9, XP000978771 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. WASHINGTON., US ISSN: 0022-2623 Zusammenfassung X Scheme I, Struktur 9	14 1-13 14
X	CH CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 69, no. 9, 26. August 1968 (1968-08-26) Columbus, Ohio, US; abstract no. 35691c, BOLLAG, WERNER ET AL: "Substituted Benzylhydrazines" Seite 3321; Spalte 2; XP002157508 Zusammenfassung, Seite 3322, Zeile 29 & CH 441 366 A (HOFFMANN LA ROCHE, F., AND CO., AG) 15. Januar 1968 (1968-01-15) -----	14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/08234



Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9920608	A	29-04-1999	AU 1150899 A	10-05-1999
			BR 9812922 A	08-08-2000
			CN 1275979 T	06-12-2000
			EP 1023268 A	02-08-2000
			HR 20000217 A	31-10-2000
			NO 20001924 A	15-06-2000
US 5914319	A	22-06-1999	US 5705487 A	06-01-1998
			US 5726159 A	10-03-1998
			US 5707966 A	13-01-1998
			US 5710130 A	20-01-1998
DE 947552	C		NONE	
US 3257411	A	21-06-1966	CH 475282 A	15-07-1969
			CH 509348 A	30-06-1971
			DE 1470068 A	15-01-1970
			FR 3960 M	
			FR 1568702 A	30-05-1969
			GB 1058383 A	
			GB 1058384 A	
			NL 6406703 A	15-12-1964
			US 3453265 A	01-07-1969
CH 441366	A		NONE	

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 20538P WO	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/08234	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 23/08/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 25/08/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07C279/18		
Anmelder WILEX AG et al.		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 5 Blätter.</p>		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <ul style="list-style-type: none">I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des BerichtsII <input type="checkbox"/> PrioritätIII <input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche AnwendbarkeitIV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der ErfindungV <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser FeststellungVI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte UnterlagenVII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen AnmeldungVIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung		
Datum der Einreichung des Antrags 07/03/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 21.11.2001	
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Jardon Alvarez, J Tel. Nr. +49 89 2399 8325 	

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-19 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-12 eingegangen am 19/10/2001 mit Schreiben vom 19/10/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/2,2/2 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/08234

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
- ☒ Ansprüche Nr. 11.

Begründung:

- ☒ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 11, bezüglich gewerbliche Anwendbarkeit beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
siehe Beiblatt
 - ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
 - ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
 - ☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:
- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
 - ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-10,12
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt**

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

Zu Punkt III

Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Der Anspruch 11 bezieht sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieses Anspruches kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

D1: WO - A - 99 20608,
D2: US - A - 5 914 319,
D3: DE - C - 947 552,
D4: US - A - 3 257 411,
D5: J. Med. Chem. 1990, 33, 2956-2961,
D6: J. Med. Chem. 1992, 32, 4150-9,
D7: Chem. Abstr. 1968, 69, 35691c,

1. Der Gegenstand der abgegrenzten Ansprüche 1 bis 12 betrifft monozyklische Arylguanidin-Derivate der allgemeinen Formel (I) (siehe Anspruch 1) und (IV) (siehe Anspruch 5), ihre Verwendung als selektive Inhibitoren des Plasminogen-aktivators vom Urokinase-Typ (uPA) sowie ein Verfahren zur Urokinase-Hemmung bei Lebewesen.

Die beanspruchten Arylguanidin-Derivate weisen ein monozyklisches Ringsystem mit einem einzigen Ring und einen Substituenten mit einer Methylengruppe gefolgt von Wasserstoffdonor/Akzeptorfunktionalitäten ($-\text{CH}_2\text{X}^1$) auf.

2. Dokumente D1 bis D7 beschreiben Arylguanidin-Derivate, welche neuheitschädlich für die ursprünglichen eingereichten Ansprüche waren. Durch die Abgrenzung der Ansprüche auf **monozyklische aromatische Verbindungen**

mit einem Substituenten $-\text{CH}_2\text{X}^1$ sind die Verbindungen aus D1 bis D7 aus den vorliegenden Ansprüchen ausgenommen.

Der Anspruchsgegenstand wird daher als neu angesehen (Art. 33(2) PCT).

3. Ausgehend von dem auf Seiten 1 und 2 der Beschreibung zitierten Stand der Technik (siehe auch D1) liegt der vorliegenden Erfindung die Aufgabe zugrunde, neue selektive uPA-Inhibitoren bereitzustellen.

Diese Aufgabe wurde gelöst durch die Verbindungen der allgemeinen Formeln (I) und (IV), welche eine besonders hohe Wirksamkeit und Selektivität für uPA aufweisen (siehe Beispiel 4). Keines der vorhandenen Dokumente enthält einen Hinweis, dass gerade monozyklische aromatische Verbindungen mit einem Substituenten $-\text{CH}_2\text{X}^1$ eine besonders hohe Aktivität und Selektivität besitzen. Außerdem konnte die Anmelderin (Brief vom 19.01.2001) zeigen, dass Phenylguanidin-Derivate mit den Substituenten $-\text{X}^1$ bzw. $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{X}^1$ am aromatischen Ring (anstelle des Substituenten $-\text{CH}_2\text{X}^1$) als uPA-Inhibitoren unwirksam sind.

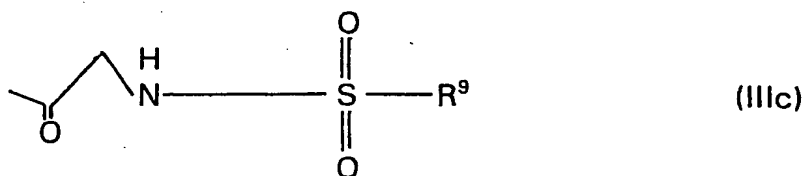
Daher wird der Gegenstand der Ansprüche 1 bis 12 als erfinderisch angesehen (Art. 33(3) PCT).

Zu Punkt VII

Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

1. Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1 - D4, D6 und D7 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.
2. Die Beschreibung steht nicht, wie in Regel 5.1 a) iii) PCT vorgeschrieben, in Einklang mit den Ansprüchen.
3. Anspruch 4 ist unklar bezüglich des Begriffes "Cycloalkylresten", welche nicht von Anspruch 1 umfaßt sind (Artikel 6 PCT).

- 21 -



wobei

X^2 NH, NR^4 , O oder S bedeutet,

X^3 NH, NR^4 , O, S, CO, COO, CONH oder $CONR^4$ bedeutet,

Y $C(R^8)_2$ bedeutet,

R^4 H oder einen Alkyl-, Alkenyl- oder Alkinyll-Rest bedeutet,

R^7 H oder einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyll-, Aryl- oder/und Heteroarylrest oder $-SO_2-R^9$ bedeutet,

R^8 jeweils unabhängig H, Halogen oder einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyll-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet,

R^9 H oder einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyll-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet und

n eine ganze Zahl von 0 bis 2 ist,

R^4 wie oben definiert ist,

R^5 H, einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyll-, Carboxy-alkyl-, Carboxy-alkenyl-, Carboxy-alkinyll-, Carboxy-aryl- oder Carboxy-heteroarylrest bedeutet;

R^2 Halogen, $C(R^6)_3$, $C_2(R^6)_5$, $OC(R^6)_3$ oder $OC_2(R^6)_5$ bedeutet, wobei

R^6 jeweils unabhängig H oder Halogen, insbesondere F, ist; und

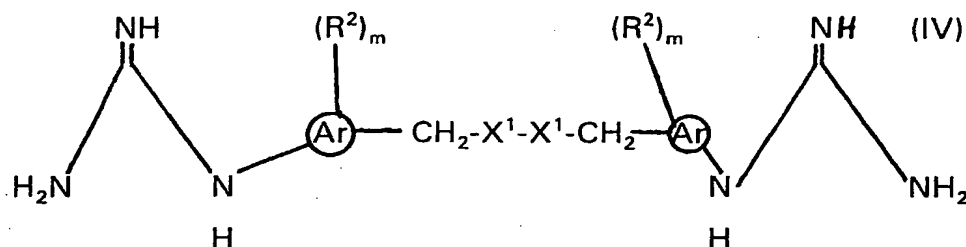
m eine ganze Zahl von 0 bis 4 ist;

oder Salzen dieser Verbindungen zur Herstellung eines Mittels zur Hemmung des Urokinase-Plasminogenaktivators.

- 22 -

2. Verwendung nach Anspruch 1, worin Ar einen Benzolring bedeutet.
3. Verwendung nach Anspruch 2, worin die Substituenten $-\text{CH}_2\text{X}^1$ und $-\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ in para-Position zueinander angeordnet sind.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin R^7 und R^9 ausgewählt sind aus Aryl-, insbesondere Phenylresten, und tertiären Alkylresten oder Cycloalkylresten, insbesondere Bicycloalkylresten, wie Adamantyl.

5. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (IV)



worin

X^1 jeweils unabhängig NR^3R^4 , OR^3 , SR^3 , COOR^3 , CONR^3R^4 oder COR^5 bedeutet, mit der Maßgabe, dass die zwei Arylguanidingruppen über die Substituenten CH_2X^1 miteinander verknüpft sind,

wobei

R^3 jeweils unabhängig H oder einen beliebigen organischen Rest bedeutet,

R^4 jeweils unabhängig H oder einen Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynyl-Rest bedeutet;

Ar jeweils unabhängig ein aromatisches oder heteroaromatisches Ringsystem bedeutet,

- 23 -

R^2 jeweils unabhängig Halogen, $C(R^6)_3$, $C_2(R^6)_5$, $OC(R^6)_3$ oder $OC_2(R^6)_5$ bedeutet,

wobei

R^6 jeweils unabhängig H oder Halogen, insbesondere F, ist; und

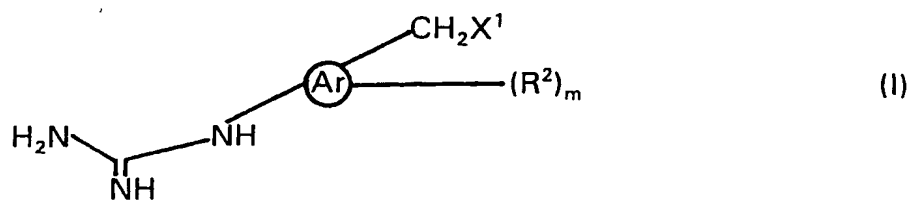
m eine ganze Zahl von 0 bis 4 ist;

oder Salzen dieser Verbindungen zur Herstellung eines Mittels zur Hemmung des Urokinase-Plasminogenaktivators.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Bekämpfung von Krankheiten, die mit einer pathologischen Überexpression von Urokinase oder/und Urokinase-Rezeptor assoziiert sind.
7. Verwendung nach Anspruch 6 zur Tumorbekämpfung.
8. Verwendung nach Anspruch 6 oder 7 zur Bekämpfung der Metastasenbildung.
9. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Herstellung von oral, topisch, rektal oder parenteral verabreichbaren Arzneimitteln.
10. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflastern.
11. Verfahren zur Urokinasehemmung bei Lebewesen, insbesondere beim Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 5.

- 24 -

12. Verbindungen der Formel (I)



10

worin Ar, X¹, R² und m wie in einem der Ansprüche 1 bis 5 definiert sind.

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. März 2001 (01.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/14324 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07C 279/18, A61K 31/155

(74) Anwälte: WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, 81679 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/08234

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. August 2000 (23.08.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 40 389.9 25. August 1999 (25.08.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): WILEX BIOTECHNOLOGY GMBH [DE/DE];
Grillparzerstrasse 10B, 81675 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MAGDOLEN, Vik-
tor [US/DE]; Moosachweg 3, 85551 Kirchheim (DE).
MORODER, Luis [DE/DE]; Alexander-Fleming-Straße
10d, 82152 Martinsried (DE). SPERL, Stefan [DE/DE];
Anton-Koeck-Straße 5a, 82049 Pullach (DE). STÜRZE-
BECHER, Jörg [DE/DE]; Hubertusstraße 38, 99094
Erfurt-Rhoda (DE). WILHELM, Olaf [DE/DE]; Säbener
Straße 188, D-81545 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen.

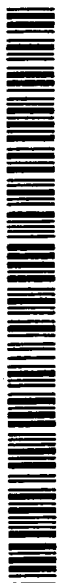
Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: SELECTIVE INHIBITORS OF THE UROKINASE PLASMINOGENE ACTIVATORS

(54) Bezeichnung: SELEKTIVE INHIBITOREN DES UROKINASE-PLASMINOGEN AKTIVATORS

(57) Abstract: The present invention relates to novel selective inhibitors of the urokinase plasminogene activator (uPA, EC 3.4.21.31) of the aryl guanidine type.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft neue selektive Inhibitoren des Urokinase-Plasminogenaktivators (uPA, EC 3.4.21.31) vom Arylguanidintyp.



WO 01/14324 A1

Selektive Inhibitoren des Urokinase-Plasminogen Aktivators

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue selektive Inhibitoren des Urokinase-Plasminogenaktivators (uPA, EC 3.4.21.31) vom Arylguanidintyp.

10

15

20

Der Plasminogenaktivator von Urokinase-Typ (uPA) spielt eine Schlüsselrolle bei der Tumordinvasion und Metastasenbildung (Schmitt et al., J. Obst. Gyn. 21 (1995), 151-165). uPA wird in verschiedenen Arten von Tumorzellen überexprimiert (Kwaan, Cancer Metastasis Rev. 11 (1992), 291-311) und bindet an den Tumor-assoziierten uPA-Rezeptor (uPA-R), wo die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin stattfindet. Plasmin ist in der Lage, verschiedene Komponenten der extrazellulären Matrix (ECM) wie Fibronectin, Laminin und Kollagen Typ IV abzubauen. Es aktiviert auch einige andere ECM-abbauende Enzyme, insbesondere Matrix-Metalloproteinasen. Hohe Mengen an Tumor-assoziiertem uPA korrelieren mit einem höheren Metastasierungsrisiko für Krebspatienten (Stephens et al., Breast Cancer Res. & Treat. 52 (1998), 99-111). Eine Hemmung der proteolytischen Aktivität von uPA ist daher ein guter Ansatzpunkt für eine anti-metastatische Therapie.

25

30

Ein gemeinsames Merkmal vieler bekannter synthetischer uPA-Inhibitoren ist ein basischer Rest, der Amidino- oder Guanidino-Gruppen enthält, und an Asp¹⁸⁹ in der S1-Spezifitätstasche von uPA binden kann und dort als Arginin-Mimetikum wirkt (Spraggon et al., Structure 3 (1995), 681-691). Die meisten der bekannten Inhibitoren sind jedoch nicht selektiv für uPA, sondern hemmen auch andere Serinproteasen wie Trypsin, Thrombin, Plasmin oder Gewebs-Plasminogenaktivator (tPA).

- 2 -

p-Aminobenzamidin ist ein moderat selektiver uPA-Inhibitor mit einer Hemmkonstante von 82 μM . Billstroem et al. (Int. J. Cancer 61 (1995), 542-547) konnten eine deutliche Abnahme der Wachstumsrate von DU145 Tumoren (eine Prostata-Adenokarzinom-Zelllinie) in SCID Mäusen bei oraler
5 Verabreichung in einer Tagesdosis von 125 bis 250 mg p-Aminobenzamidin/kg/Tag zeigen. Die Nebenwirkungen waren vernachlässigbar gering.

Einige monosubstituierte Phenylguanidine haben sich als wirksame und selektive uPA Inhibitoren in vitro erwiesen. Diese kleinen Moleküle zeigen
10 Inhibierungskonstanten im Mikromolarbereich, sie binden jedoch nur in der S1 Tasche von uPA (Yang et al., J. Med. Chem. 33 (1990), 2956-2961). Biologische Untersuchungen mit diesen Verbindungen wurden nicht durchgeführt.

Das Diuretikum Amilorid ist ein selektiver uPA-Inhibitor (K_i , uPA = 7 μM),
15 der die Bildung von Lungenmetastasen nach i.v. Inokulation von Ratten-Brustadenokarzinomzellen verhindert (Kellen et al., Anticancer Res. 8 (1988), 1373-1376). Einige Derivate von 3-Amidino-phenylalanin haben sich ebenfalls als wirksame Inhibitoren von Serinproteasen erwiesen, diese
20 Verbindungen weisen jedoch im allgemeinen nur eine geringe Selektivität für uPA auf (Stürzebecher et al., J. Med. Chem. 40 (1997), 3091-3099; Stürzebecher et al., J. Enzyme Inhib. 9 (1995), 87-99).

Die derzeit wirksamsten und selektivsten uPA-Inhibitoren sind Derivate von
25 Benzo[b]thiophen-2-carboxamidin (B428 und B623: $K_{i, \text{uPA}} = 0,32$ bzw. 0,07 μM ; US-Patent 5,340,833). Rabbani et al. (Int. J. Cancer 63 (1995), 840-845) sowie Xing et al. (Cancer Res. 57 (1997), 3585-3593) konnten nach Verabreichung von 4-Iod-benzo[b]-thiophen-2-carboxamidin (B428) eine Abnahme des Tumorwachstums und der Metastasenbildung in einem
30 syngenem Modell für Ratten-Prostatakarzinom bzw. Maus-Mammakarzinom zeigen. Letztere Untersuchungen zeigten eine weitere Abnahme des

Primärtumorwachstums bei gemeinsamer Verabreichung von B428 mit dem Antiöstrogen Tamoxifen.

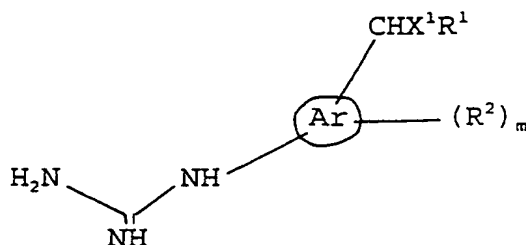
Die der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende Aufgabe bestand darin, neue selektive uPA-Inhibitoren bereitzustellen. Diese Aufgabe wird durch neue Arylguanidin- und insbesondere Phenylguanidin-Derivate gelöst. Diese Verbindungen enthalten einen weiteren Substituenten am aromatischen Ringsystem, vorzugsweise in Para-Position zur Guanidingruppe, der eine gegebenenfalls substituierte Methylengruppe gefolgt von Wasserstoffdonor/Akzeptorfunktionalitäten enthält. Aufgrund dieses Substitutionsmusters weisen die Verbindungen eine besonders hohe Wirksamkeit und Selektivität für uPA auf. Diese Wirksamkeit könnte möglicherweise darauf zurückzuführen sein, daß sie

- (1) als Arginin-Mimetikum mit dem Aminosäurerest Asp¹⁸⁹ in der S1-Tasche von uPA wechselwirken und
- (2) eine Wechselwirkung mit der S2- und/oder S3-Tasche von uPA eingehen können.

N-substituierte p-Aminophenylguanidine (ohne Methylenspacer) sowie Derivate von p-Guanidino-phenylalanin (2 Methylengruppen als Spacer) waren als uPA-Inhibitoren unwirksam. Vorzugsweise enthalten die erfindungsgemäßen Verbindungen Urethan- oder Harnstoffgruppen für eine Wechselwirkung mit S2 und/oder große hydrophobe Reste wie Arylgruppen oder Cycloalkylgruppen (z.B. Adamantan) für eine Wechselwirkung mit S3.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I

- 4 -



worin

Ar ein aromatisches oder heteroaromatisches Ringsystem bedeutet,

X^1 NR^3R^4 , OR^3 , SR^3 , COOR^3 , CONR^3R^4 oder COR^5 bedeutet,

R^1 H, einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest oder COOR^3 , CONR^3R^4 oder COR^5 bedeutet,

R^2 Halogen, $\text{C}(\text{R}^6)_3$, $\text{C}_2(\text{R}^6)_5$, $\text{OC}(\text{R}^6)_3$ oder $\text{OC}_2(\text{R}^6)_5$ bedeutet,

R^3 H oder einen beliebigen organischen Rest bedeutet,

R^4 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest bedeutet,

R^5 H, einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Carboxy-alkyl-, Carboxy-alkenyl-, Carboxy-alkynyl-, Carboxy-aryl- oder Carboxy-heteroarylrest bedeutet, wobei die Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- und Heteroarylreste gegebenenfalls substituiert sein können,

R^6 jeweils unabhängig H oder Halogen, insbesondere F, ist und

m eine ganze Zahl von 0 bis 4 ist,

oder Salzen dieser Verbindungen zur Herstellung eines Mittels zur Hemmung des Urokinase-Plasminogenaktivators.

Die Verbindungen können als Salze, vorzugsweise als physiologisch verträgliche Säuresalze, z.B. als Salze von Mineralsäuren, besonders bevorzugt als Hydrochloride oder als Salze von geeigneten organischen Säuren vorliegen. Die Guanidiniumgruppe kann gegebenenfalls Schutzfunktionen tragen, die vorzugsweise unter physiologischen

Bedingungen abspaltbar sind. Die Verbindungen können als optisch reine Verbindungen oder als Gemische von Enantiomeren oder/und Diastereoisomeren vorliegen.

5 In den Verbindungen der allgemeinen Formel (I) ist Ar vorzugsweise ein aromatisches oder heteroaromatisches Ringsystem mit einem einzigen Ring, insbesondere ein Benzolring. In diesem Ringsystem sind die Substituenten CHX^1R^1 und $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ vorzugsweise in Meta- oder Para-Position und besonders bevorzugt in Para-Position zueinander angeordnet. Darüber
10 hinaus kann Ar noch weitere von Wasserstoff verschiedene Substituenten R^2 enthalten. Vorzugsweise ist die Anzahl der Substituenten R^2 0, 1, 2 oder 3, besonders bevorzugt 0 oder 1 und am meisten bevorzugt 0. Bevorzugte Beispiele für R^2 sind Halogenatome (F, Cl, Br oder I), CH_3 , CF_3 , OH, OCH_3 oder OCF_3 .

15 Für die Inhibitoraktivität kritisch ist der Substituent $-\text{CHX}^1\text{R}^1$. R^1 kann H oder ein gegebenenfalls substituierter Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest sein. Der Alkylrest kann eine geradkettige oder verzweigte C_1 - C_{10} -Alkylgruppe, insbesondere eine C_1 - C_4 -Alkylgruppe, oder eine C_3 - C_8 -
20 Cycloalkylgruppe sein, die beispielsweise mit C_1 - C_3 -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Amino, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen aber auch mit Aryl- oder Heteroarylresten substituiert sein kann. Alkenyl- und Alkenylreste sind vorzugsweise C_2 - C_{10} -Gruppen, insbesondere C_2 - C_4 -Gruppen, die gegebenenfalls wie zuvor angegeben substituiert sein können.
25 Aryl- und Heteroarylreste können beispielsweise mit C_1 - C_6 -Alkyl, C_1 - C_3 -Alkoxy-Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano oder/und Oxo substituiert sein. Weiterhin kann R^1 die Bedeutungen COOR^3 , CONR^3R^4 oder COR^5 aufweisen.

30 Die Gruppe X^1 ist ein Rest mit Elektronendonator- oder/und Elektronenakzeptor-Eigenschaften, vorzugsweise NR^3R^4 , OR^3 , SR^3 , COOR^3 , CONR^3R^4 oder COR^5 . Besonders bevorzugt ist X^1 NR^3R^4 . R^3 kann ein beliebiger

- 6 -

organischer Rest oder Wasserstoff sein. R^4 kann Wasserstoff oder ein gegebenenfalls substituierter Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest sein, wie zuvor angegeben.

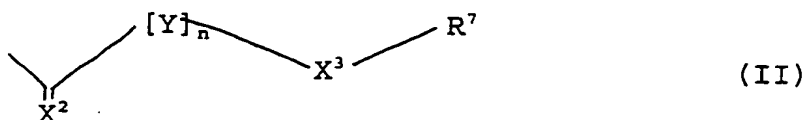
- 5 R^5 kann Wasserstoff, ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Carboxy-alkyl-, Carboxy-alkenyl-, Carboxy-alkinyl-, Carboxy-aryl- oder Carboxy-heteroaryl-Rest sein. Vorzugsweise ist R^5 ein raumfüllender Rest und enthält mindestens eine Aryl-, Heteroaryl-, Cycloalkyl- oder/und tert.-Alkylgruppe. Besonders bevorzugt sind Phenylreste, substituierte Phenylreste, tert. Alkylreste und
- 10 Cycloalkylreste, die gegebenenfalls Substituenten wie vorstehend definiert enthalten können.

Wenn X^1 die Bedeutung NR^3R^4 hat und R^3 und R^4 jeweils unabhängig Wasserstoff oder gegebenenfalls substituierte Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl- oder

15 Heteroarylreste (siehe Definition für R^1) darstellen, weist R^1 vorzugsweise eine von Wasserstoff verschiedene Bedeutung, besonders bevorzugt $COOR^3$, $CONR^3R^4$ oder COR^5 , insbesondere $COOR^3$, $CONH_2$, $CO-COOR^5$ oder CHO auf, so daß die Verbindungen I Derivate von Guanidino-Phenylglycin sind.

20

Besonders bevorzugt ist R^3 eine Gruppe der allgemeinen Formel (II):



25

worin

- X^2 NH, NR^4 , O oder S bedeutet,
- X^3 NH, NR^4 , O, S, CO, COO, CONH oder $CONR^4$ bedeutet,
- 30 Y $C(R^8)_2$ bedeutet,
- R^4 wie in Formel (I) definiert ist,
- R^7 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest oder $-SO_2-R^9$ bedeutet,

- 7 -

R^8 jeweils unabhängig H, Halogen oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl- oder Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet,

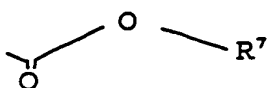
R^9 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet und

n eine ganze Zahl von 0 bis 2 ist.

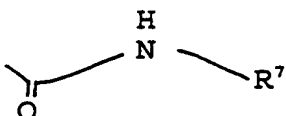
X^2 ist vorzugsweise NH oder O, besonders bevorzugt O. X^3 ist vorzugsweise NH oder -O-. Y ist vorzugsweise CH_2 oder CHR^8 , wobei R^8 vorzugsweise wie R^4 in Formel (I) definiert ist.

R^7 und R^9 sind vorzugsweise wie R^5 in Formel (I) definiert.

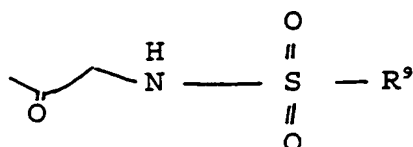
Am meisten bevorzugt ist R^3 eine Gruppe der allgemeinen Formeln IIIa, IIIb oder IIIc:



IIIa



IIIb



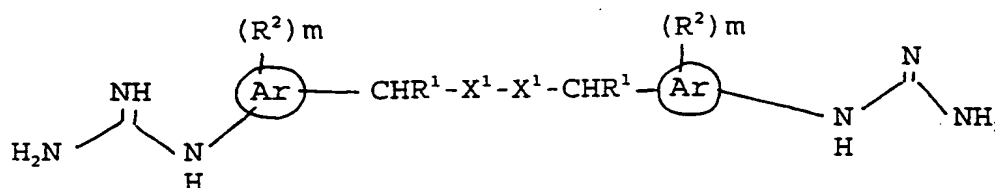
IIIc

worin R^7 und R^9 wie in Formel (II) definiert sind.

- 8 -

Die Substituenten R^7 und R^9 enthalten - ebenso wie R^5 - vorzugsweise raumfüllende Gruppen, die ausgewählt sein können aus gegebenenfalls substituierten Arylresten, insbesondere Phenyl- und substituierten Phenylresten und gegebenenfalls substituierten verzweigte Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylresten, insbesondere mit tertiären C-Atomen wie tert.-Butyl oder Neopentyl oder gegebenenfalls substituierten Cycloalkylresten, insbesondere Bi- oder Tricycloalkylresten wie Adamantyl.

Eine besonders hohe Affinität und Selektivität für uPA haben auch Verbindungen der allgemeinen Formel (IV):



worin Ar, X^1 , R^2 und m unabhängig bei jedem Vorkommen gleich oder verschieden sein können und eine Bedeutung wie in den Formeln (I), (II) und (IIIa-c) definiert besitzen.

Die Verbindungen der Formel (IV) enthalten zwei Arylguanidinogruppen und sind über ihre Substituenten CHR^1X^1 -, die jeweils gleich oder verschieden sein können, miteinander verknüpft.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) können beispielsweise ausgehend von p-Amino-benzylamin gemäß den in den Figuren 1 und 2 gezeigten Reaktionsschematen hergestellt werden. 4-Amino-benzylamin kann beispielsweise mit einem Schutzreagenz für Aminogruppen, z.B. Di-tert-butyl-pyrocbonat zu einem geschützten Zwischenprodukt 4-(N-Boc-Aminomethyl)-anillin (1) umgesetzt werden, wobei Boc tert-Butyloxycarbonyl bedeutet. Die aromatische Aminofunktion dieser

Verbindung kann mit einem Guanidinylierungsreagenz, z.B. N,N'-di-Z-N''-triflylguanidin umgesetzt werden, wobei 1-[4-(N-Boc-aminomethyl)-phenyl]-2,3-di-Z-guanidin (2) entsteht, wobei Z Benzyloxycarbonyl bedeutet. Diese Verbindung kann durch Abspaltung der Boc-Schutzgruppe zu 1-[4-(Aminomethyl)-phenyl]-2,3-di-Z-guanidinium-hydrochlorid (4) umgesetzt werden. Die Verbindung (4) kann wiederum mit reaktiven Verbindungen wie etwa Chlorameisensäureestern, Isocyanaten oder N-Hydroxysuccinimidestern zu den gewünschten Endprodukten umgesetzt werden.

Die Darstellung hydrierungsstabiler Verbindungen ist in Figur 2 beschrieben. 4-Amino-benzylamin kann mit einem Schutzreagenz für Aminogruppen, z.B. Benzyloxycarbonyloxy-succinimid zu einem geschützten Zwischenprodukt (6) und dann mit einem weiteren Guanidinylierungsreagenz, z.B. N,N'-di-Boc-1-guanylpyrazol zu (7) umgesetzt werden. Diese Verbindung kann zu (8) hydriert und anschließend mit reaktiven Verbindungen zu den gewünschten Endprodukten umgesetzt werden.

Auf entsprechende Weise können auch Verbindungen synthetisiert werden, bei denen X^1 die Bedeutung OR^3 , SR^3 , $COOR^3$, $CONR^3R^4$ oder COR^5 hat.

Die erfindungsgemäßen Urokinaseinhibitoren können gegebenenfalls zusammen mit geeigneten pharmazeutischen Hilfs- oder Trägerstoffen zur Herstellung von Arzneimitteln oder in der Diagnostik verwendet werden. Dabei ist eine Verabreichung in Kombination mit anderen Wirkstoffen, z.B. anderen Urokinaseinhibitoren wie etwa Antikörpern oder/und Peptiden möglich.

Die Arzneimittel können bei Menschen und Tieren topisch, oral, rektal oder parenteral, z.B. subkutan oder intravenös, z.B. in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflastern, verabreicht werden.

- 10 -

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind zur Bekämpfung von Krankheiten geeignet, die mit einer pathologischen Überexpression von uPA oder/und uPAR assoziiert sind. Sie sind beispielsweise in der Lage, hocheffizient das Wachstum oder/und die Ausbreitung der malignen Tumoren sowie die
5 Metastasierung von Tumoren zu hemmen. Dabei können die uPA-Inhibitoren gegebenenfalls zusammen mit anderen Tumormitteln oder mit anderen Behandlungsarten, z.B. Bestrahlung oder chirurgischen Eingriffen, eingesetzt werden. Weiterhin sind die erfindungsgemäßen Inhibitoren auch für andere uPA-assoziierte Erkrankungen wirksam.

10 Erfindungsgemäße uPA-Inhibitoren sind vorzugsweise dadurch gekennzeichnet, daß sie mindestens einen zweifach, vorzugsweise mindestens einen fünffach und besonders bevorzugt einen mindestens zehnfach und bis zu 1000-fach geringeren K_i -Wert für uPA gegenüber tPA aufweisen.
15 Weiterhin ist bemerkenswert, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen die Blutgerinnung nur geringfügig beeinflussen, da sie für eine effektive Hemmung von Thrombin, Plasmin und Faktor Xa zu hohe K_i -Werte haben.

Die erfindungsgemäßen Substanzen der Formel (I) können in Form von
20 Konjugaten mit physiologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden, z.B. mit Radiomarkierungen oder mit zytotoxischen Mitteln, z.B. Chemotherapeutika wie cis-Platin oder 5-Fluor-uracil, oder Peptiden. Weiterhin können die Substanzen auch in die Membran von Trägervesikeln, z.B. Liposomen, eingebaut werden und somit ein Targeting von in den
25 Trägervesikeln eingeschlossenen Wirksubstanzen, z.B. zytotoxischen Mitteln, wie etwa Doxorubicin, ermöglichen.

Durch die Erfindung wird ein Verfahren zur Urokinasehemmung bei Lebewesen, insbesondere bei Menschen, durch Verabreichung einer
30 wirksamen Menge mindestens einer Verbindung der allgemeinen Formel (I) bereitgestellt. Die Dosierung der Verbindung liegt üblicherweise im Bereich von 0,01 bis 100 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Die Dauer der Behandlung

hängt von der Schwere der Erkrankung ab und kann von einer einmaligen Gabe bis zu einer mehrwöchigen oder sogar mehrmonatigen Behandlung, die gegebenenfalls in Intervallen wiederholt werden kann, reichen.

- 5 Schließlich betrifft die Erfindung neue Aryl-Guanidinderivate der allgemeinen Formel (I).

Die Erfindung soll an den folgenden Beispielen und Abbildungen näher erläutert werden. Es zeigt:

10

Figur 1 ein allgemeines Reaktionsschema zur Herstellung erfindungsgemäßer hydrierungsstabiler Substanzen.

Figur 2 ein allgemeines Reaktionsschema zur Herstellung erfindungsgemäßer hydrierungsstabiler Substanzen.

15

Beispiele

Material und Methoden

20

Alle für die Synthese von uPA-Inhibitoren verwendeten Lösungsmittel und Reagenzien waren von der höchsten kommerziell verfügbaren Qualität und wurden - sofern erforderlich - durch Standardmethoden weiter aufgereinigt und getrocknet. Die analytische HPLC erfolgte auf Nucleosil 100/C18
25 Säulen (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) unter Verwendung eines linearen Acetonitril/2% H₃PO₄ Gradienten (von 5:95 bis 90:10 in 13 min) ESI-MS-Spektren wurden auf einem Perkin Elmer API 165 Massenspektrometer gemessen.

30

Beispiel 1 Synthese von säurelabilen Urethanen, z.B. 4-(N-Boc-aminomethyl)-phenylguanidin (3)

4-(N-Boc-aminomethyl)-anilin (1)

5
4-Amino-benzylamin (2 ml; 17,6 mmol) wurde in 1,4-Dioxan (10 ml) gelöst. Unter Rühren wurde eine wässrige 2 N NaOH-Lösung (17,6 ml; 35,2 mmol) zugegeben. Eine Lösung von Di-tert-butyl-pyrocarbonat (3,08 g; 14,1 mmol) in 1,4-Dioxan (30 ml) wurde tropfenweise über 30 min zugegeben und das
10 Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde im Vakuum auf etwa 10 ml konzentriert und zweimal mit Ethylacetat (30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit wässrigem 5% KHSO₄ (10 ml), wässrigem 5% NaHCO₃, Wasser und Salzlösung gewaschen, über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und im
15 Vakuum eingedampft, wobei das Produkt als hellgelbe Festsubstanz erhalten wurde.

Ausbeute: 2,38 g (76 %); HPLC: t_R 5,6 min; MS 223 (M + H)⁺, berechnet 222 (M).

20 **1-[4-(N-Boc-aminomethyl)-phenyl]-2,3-di-Z-guanidin (2)**

Eine Lösung der Verbindung (1) (500 mg; 2,24 mmol) und N,N'-di-Z-N''-triflylguanidin (1,04 g; 2,24 mmol) (Feichtinger et al., J. Org. Chem. 63
25 (1998), 3804-3805) in 5 ml Aceton wurde bei Raumtemperatur heftig gerührt. Nach 10 min begann das Produkt in Form eines Präzipitats auszufallen. Nach 2 h wurde das Produkt abfiltriert, im Vakuum getrocknet und aus Methanol umkristallisiert, wobei weiße Kristalle erhalten wurden.

30 Ausbeute: 1,065 g (89%); HPLC: t_R 13,4 min; MS 533 (M + H)⁺, berechnet 532 (M).

4-(Boc-aminomethyl)-phenylguanidinium-hydrochlorid (3)

50 mg (0,107 mmol) der Verbindung (2) wurden in 5 ml Methanol gelöst, gerührt und für 3 h über einem 10% Palladium-Aktivkohle-Katalysator hydriert. Nach Entfernung des Katalysators durch Filtration wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde aus Methanol/Diisopropylether nach Zugabe von einem Äquivalent HCl in 1,4-Dioxan umkristallisiert.

Ausbeute: 28 mg (87%); HPLC, t_R 7,1 min; MS 265 (M+H)⁺, berechnet 264 (M).

Beispiel 2 **Synthese von disubstituierten Harnstoffen unter Verwendung von 1-[4-(Aminomethyl)-phenyl]-2,3-di-Z-guanidinium-hydrochlorid (4) als Baustein, z.B. 4-[3-(-1-Adamantyl)-ureido]-phenyl-guanidinium-hydrochlorid (5)**

1-[4-(Aminomethyl)-phenyl]-2,3-di-Z-guanidinium-hydrochlorid (4)

1 g (1,878 mmol) der Verbindung (2) wurde in 20 ml 3 N HCl (Gas) in 1,4-Dioxan bei 0°C gelöst und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde das kristalline Produkt in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten.

Ausbeute: 872 mg (99%); HPLC: t_R 10,2 min; MS 433 (M+H)⁺, berechnet 432 (M).

4-[3-(-1-Adamantyl)-ureido]-phenyl-guanidinium-hydrochlorid (5)

50 mg (0,107 mmol) der Verbindung (4), 17 mg (0,107 mmol) Adamantyl-isocyanat und 45 µl (0,32 mmol) Triethylamin wurden in 1 ml Ethylenchlorid gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h bei Raumtemperatur gerührt.

- 14 -

Nach Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in Ethylacetat (10 ml) gelöst und dreimal mit 0,1 N wässriger HCl extrahiert. Die organische Phase wurde bis zu Trockene eingedampft. Die Entfernung der Z-Schutzgruppen erfolgte wie für Verbindung (3) beschrieben.

5

Ausbeute: 15 mg (37%); HPLC: t_R 8,6 min; MS 342 (M+H)⁺, berechnet 341 (M)

10

Beispiel 3 **Synthese von hydrierungs-labilen Verbindungen, z.B. 4-[N-(4-Nitrobenzyloxycarbonyl)-aminomethyl]-phenylguanidin (9)**

4-(N-Z-Aminomethyl)-anilin (6)

15

4-Amino-benzylamin (1 ml; 8,82 mmol) wurde in 10 ml 1,4-Dioxan gelöst. Eine wässrige 2 NaOH Lösung von NaOH (8,8 ml; 17,64 mol) wurde unter Rühren zugegeben. Dann wurde eine Lösung von Benzyloxycarbonyloxy-succinimid (1,978 g; 7,938 mmol) in 10 ml 1,4-Dioxan tropfenweise über 15 min zugegeben, und das Reaktionsgemisch für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde im Vakuum auf etwa 10 ml konzentriert und zweimal mit 30 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit wässriger 5%iger NaHCO₃ Lösung, Wasser und Salzlösung gewaschen, über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet, eingedampft und im Vakuum getrocknet, wobei das Produkt als hellgelbe Festsubstanz erhalten wurde.

25

Ausbeute: 1,8 g (88%); HPLC: t_R 6,8 min; MS 257 (M+H)⁺, berechnet 256 (M).

1-[4-[N-Z-Aminomethyl]-phenyl]-2,3-di-Boc-guanidin (7)

30

Eine Lösung von 495 mg (1,93 mmol) der Verbindung (6) und 599 mg (1,93 mmol) N,N'-di-Boc-1-guanylpirazol (Bernatowicz et al., Tetrahedron

- 15 -

Lett. 34 (1993), 3389-3392) in 5 ml Aceton wurde für 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in 50 ml Diethylether gelöst, mit wässriger 5% KHSO₄ Lösung, Wasser und Salzlösung gewaschen und über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abdampfen des Diethylethers im Vakuum wurde ein hellgelber Schaum erhalten.

Ausbeute: 670 mg (70%); HPLC: t_R 12,1 min; MS 499 (M+H)⁺, berechnet 498 (M)

1-(4-Aminomethyl)-phenyl-2,3-di-Boc-guanidin-hydrochlorid (8)

Die Verbindung (8) wurde durch katalytische Hydrierung von 600 mg (1,2 mmol) der Verbindung (7) in Ethanol über einem 10% Palladium-Aktivkohle-Katalysator für 1 h erhalten. Nach Filtration des Katalysators wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingedampft, wobei ein Öl erhalten wurde, das aus Isopropanol/Diisopropylether nach Zugabe von 1 Äquivalent HCl in 1,4-Dioxan umkristallisiert wurde.

Ausbeute: 450 mg (91%); HPLC: t_R 8,1 min; MS 365 (M+H)⁺, berechnet 364 (M)

4-[N-(4-Nitrobenzyloxycarbonyl)-aminomethyl]-phenylguanidin-hydrochlorid (9)

Eine Lösung von 50 mg (0,125 mmol) der Verbindung (8), 27 mg (0,125 mmol) 4-Nitrobenzylchlorformiat und 52 μ l (0,375 mmol) Triethylamin in 1 ml Methylenchlorid wurde für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in 30 ml Ethylacetat aufgelöst und dreimal mit 0,5 N wässriger HCl gewaschen. Nach Abdampfen des Ethylacetats wurde der Rückstand in 95% Trifluoressigsäure gelöst und für 1 h gerührt. Nach Abdampfen des

- 16 -

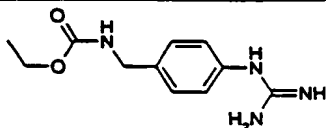
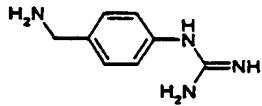
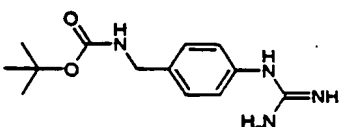
Lösungsmittel wurde das Produkt aus Ethanol/Diisopropylether umkristallisiert.

Ausbeute: 35 mg (60%); HPLC: t_R 8,1 min; MS 344 (M + H)⁺, berechnet 343 (M).

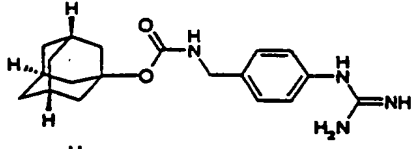
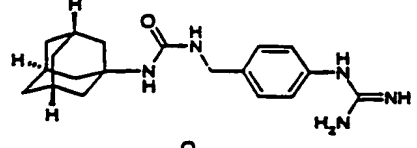
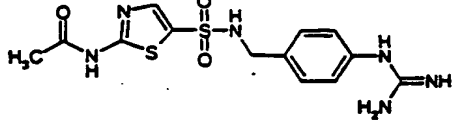
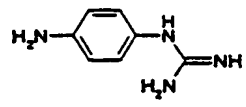
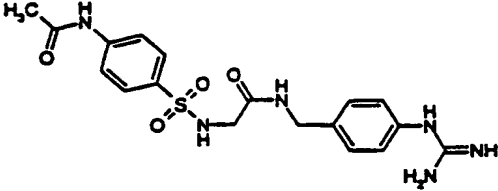
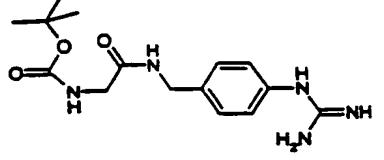
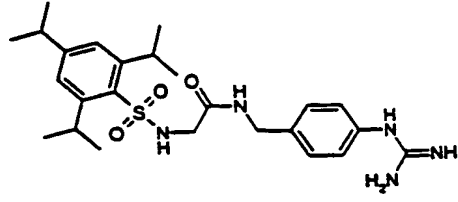
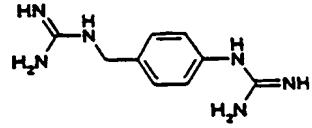
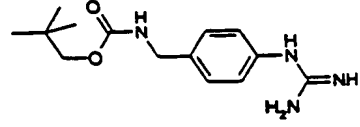
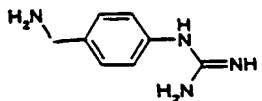
Beispiel 4 In vitro Hemmung von Urokinase durch ausgewählte Verbindungen der Formel I

- 10 Zur Bestimmung der uPA Inhibitoraktivität wurden 200 μ l Tris-Puffer (0,05 mol/l, den Inhibitor enthaltend, 0,154 mol/l NaCl, 5 % Ethanol, pH 8,0), 25 μ l Substrat (Pefachrome UK oder BZ- β -Ala-Gly-Arg-pNA in H₂O; Pentapharm LTD, Basel, Schweiz) und 50 μ l sc-Urokinase (Ribosepharm GmbH, Haan, Deutschland), bzw. eine entsprechende andere Protease bei 25 °C inkubiert.
- 15 Nach 3 min wurde die Reaktion durch Zugabe von 25 μ l Essigsäure (50%) unterbrochen und die Absorption bei 405 nm mittels eines Mikroplate Reader (MR 5000, Dynatech, Denkendorf, Deutschland) bestimmt. Die K_i -Werte wurden nach Dixon durch lineare Regression mittels eines Computerprogramms ermittelt. Die K_i -Werte sind das Mittel aus mindestens
- 20 drei Bestimmungen, die Standardabweichung lag unter 25 %. Die getesteten Inhibitoren und ihre Inhibitionskonstanten für verschiedene Proteasen sind in der folgenden Tabelle 1 dargestellt:

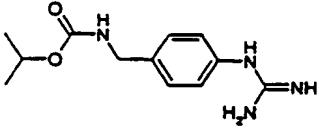
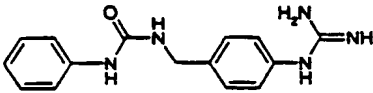
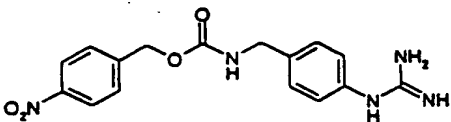
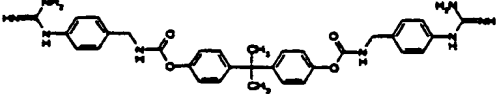
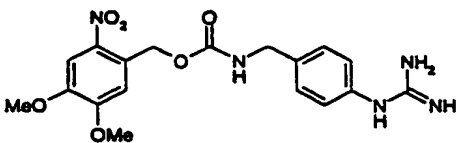
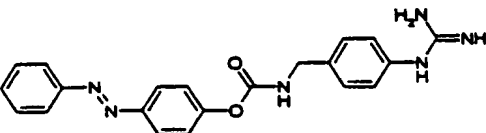
Tabelle 1

Inhibitor	Name	uPA	Plasmin	Ki [μ M]		
				Thrombin	Trypsin	F Xa
	ST 269	27	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 270	46	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 242	36	>1000	>1000	>1000	>1000

- 17 -

Inhibitor	Name	uPA	Plasmin	Ki [μ M]		
				Thrombin	Trypsin	F Xa
	ST 274	13	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 293	2,4	>1000	600	46	>1000
	ST 282	240	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 267	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 296	22	>1000	>1000	42	>1000
	ST 294	37	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 298	42	>1000	>1000	37	>1000
	ST 270	46	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 271	51	>1000	>1000	>1000	>1000
	ST 275	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000

- 18 -

Inhibitor	Name	uPA	Plasmin	Ki [μ M] Thrombin	Trypsin	F Xa
	ST 273	52	130	>1000	>1000	>1000
	ST 301	29	170	>1000	>1000	330
	ST 311	12	???	>1000	200	>1000
	ST 312	2,8	???	>1000	100	>1000
	ST 313	35	???	>1000	???	>1000
	ST 315	11	???	>1000	200	>1000

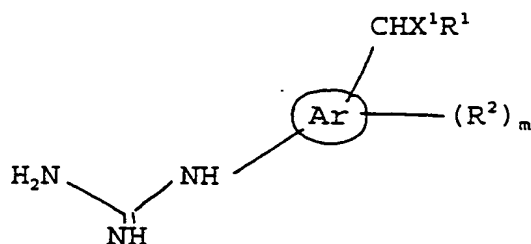
- 19 -

Die Verbindungen ST293, 312 und 315 weisen einen K_i -Wert für uPA von $> 1000 \mu\text{m}$ auf.

Die als ST293 und ST312 bezeichneten Verbindungen erwiesen sich als
5 besonders wirksame und selektive Inhibitoren.

Ansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I



worin

Ar ein aromatisches oder heteroaromatisches Ringsystem bedeutet,

X^1 NR^3R^4 , OR^3 , SR^3 , COOR^3 , CONR^3R^4 oder COR^5 bedeutet,

R^1 H, einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest, oder COOR^3 , CONR^3NR^4 oder COR^5 bedeutet

R^2 Halogen, $\text{C}(\text{R}^6)_3$, $\text{C}_2(\text{R}^6)_5$, $\text{OC}(\text{R}^6)_3$ oder $\text{OC}_2(\text{R}^6)_5$ bedeutet,

R^3 H oder einen beliebigen organischen Rest bedeutet,

R^4 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynyl-Rest bedeutet,

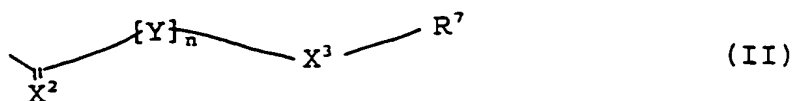
R^5 H, einen Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Carboxy-alkyl-, Carboxy-alkenyl-, Carboxy-alkynyl-, Carboxy-aryl- oder Carboxy-heteroarylrest bedeutet wobei die Alkyl-, Aryl- und Heteroarylreste gegebenenfalls substituiert sein können,

R^6 jeweils unabhängig H oder Halogen, insbesondere F, ist und

m eine ganze Zahl von 0 bis 4 ist,

oder Salzen dieser Verbindungen zur Herstellung eines Mittels zur Hemmung des Urokinase-Plasminogenaktivators.

2. Verwendung von Verbindungen nach Anspruch 1, worin Ar einen Benzolring bedeutet.
3. Verwendung von Verbindungen nach Anspruch 2, worin die Substituenten- CHX^1R^1 und -NHC(NH)NH_2 in para-Position zueinander angeordnet sind.
4. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin R^3 eine Gruppe der allgemeinen Formel II bedeutet:



worin

X^2 NH, NR^4 , O oder S bedeutet,

X^3 NH, NR^4 , O, S, CO, COO, CONH oder CONR^4 bedeutet,

Y $\text{C(R}^8)_2$ bedeutet,

R^4 wie in Anspruch 1 definiert ist,

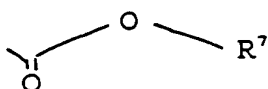
R^7 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest oder $\text{-SO}_2\text{-R}^9$ bedeutet,

R^8 jeweils unabhängig H, Halogen oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet,

R^9 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet und

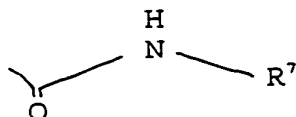
n eine ganze Zahl von 0 bis 2 ist.

5. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4, worin R^3 eine Gruppe der allgemeinen Formel IIIa, IIIb oder IIIc bedeutet:



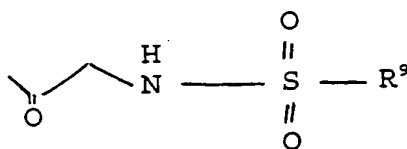
IIIa

5



IIIb

10



IIIc

15

worin R^7 und R^9 wie in Anspruch 4 definiert sind.

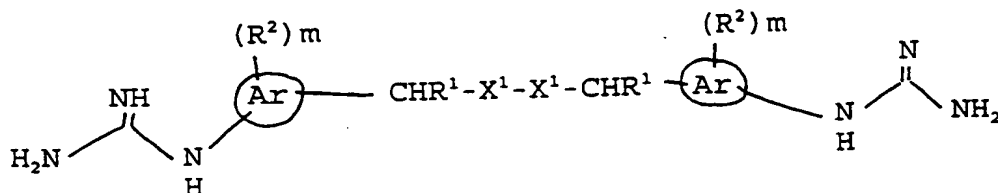
20

6. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 4 oder 5, worin R^7 und R^9 ausgewählt sind aus gegebenenfalls substituierten Aryl-, insbesondere Phenyl- und substituierten Phenylresten, und gegebenenfalls substituierten tertiären Alkylresten oder Cycloalkylresten, insbesondere Bicycloalkylresten wie Adamantyl.

25

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindungen die allgemeine Formel IV aufweisen:

30



35

worin Ar, X^1 , R^2 und m unabhängig bei jedem Vorkommen gleich oder verschieden sein können und eine Bedeutung wie in Anspruch 1 definiert besitzen.

40

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Bekämpfung von Krankheiten, die mit einer pathologischen Überexpression von Urokinase oder/und Urokinase-Rezeptor assoziiert sind.

5 9. Verwendung nach Anspruch 8 zur Tumorbekämpfung.

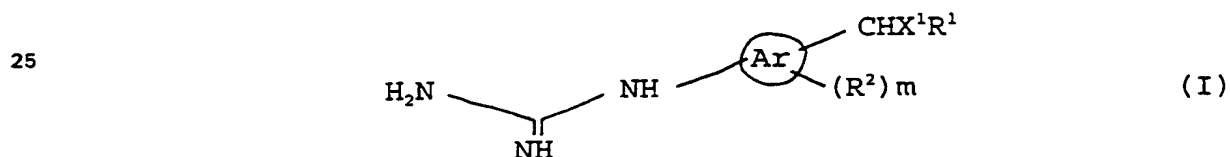
10. Verwendung nach Anspruch 8 oder 9 zur Bekämpfung der Metastasenbildung.

10 11. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Herstellung von oral, topisch, rektal oder parenteral verabreichbaren Arzneimitteln.

15 12. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen wie Pflastern.

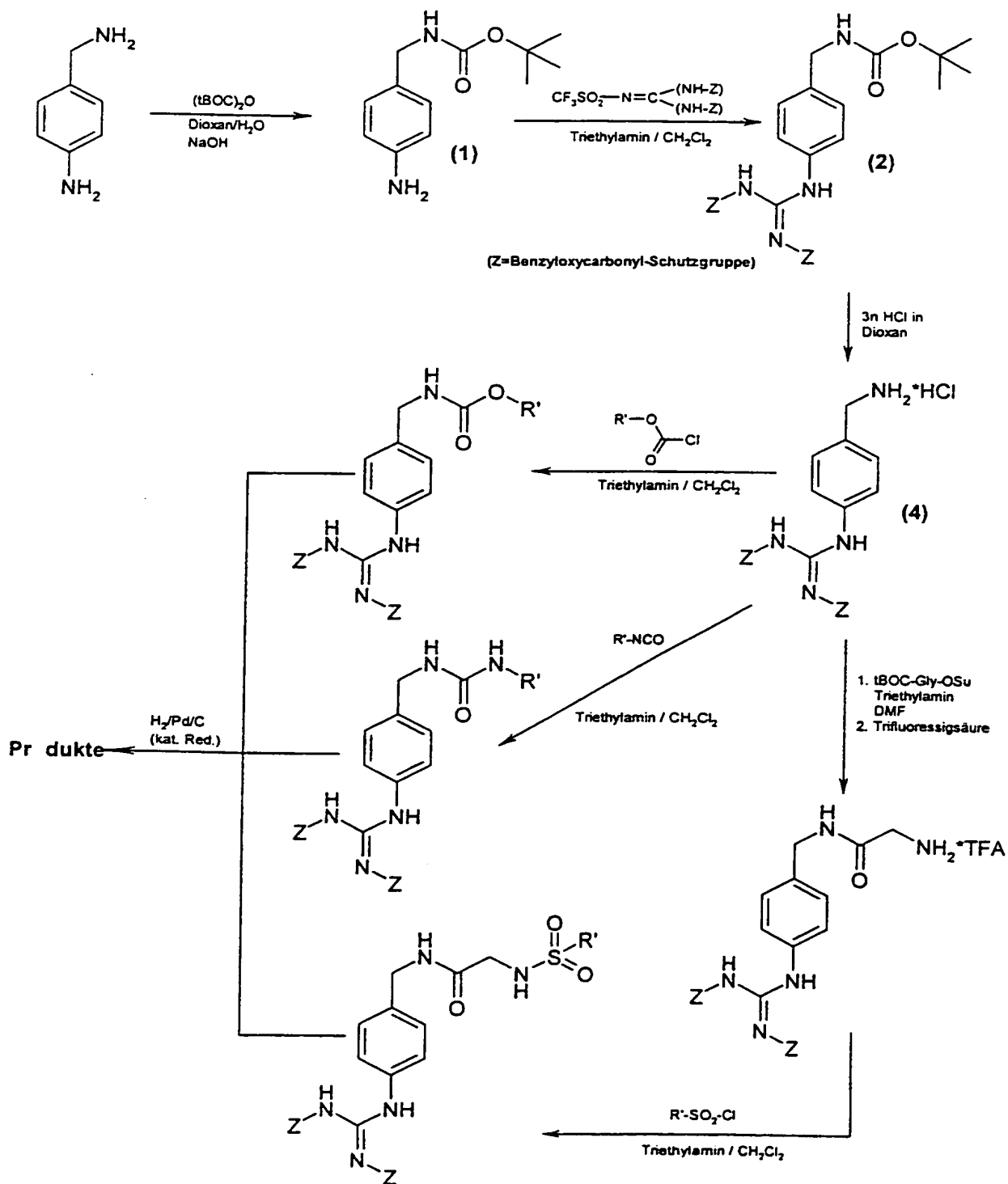
20 13. Verfahren zur Urokinasehemmung bei Lebewesen, insbesondere beim Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7.

14. Verbindungen der Formel (I)



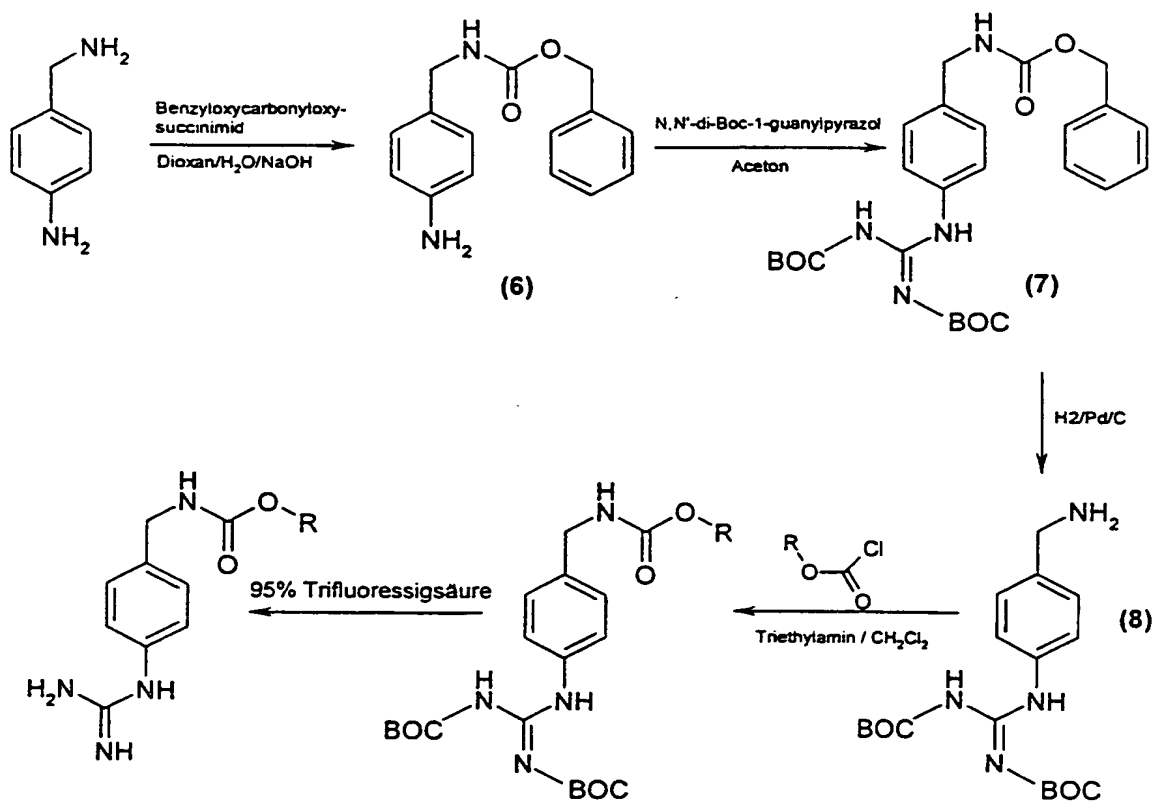
30 worin Ar, X¹, R¹, R² und m wie in einem der Ansprüche 1 bis 7 definiert sind.

Synthese der hydrierungsstabilen Verbindungen:



Figur 1

Synthese der hydrierungslabilen Verbindungen:



Figur 2